Aus dem Laboratorium der medicinischen Klinik zu Bonn.

Untersuchungen über die chemische Natur des Darmschleims.

Dissertation

bei der

Meldung zum Doktorexamen

der medicinischen Fakultät

der Rheinischen Friedrich-Wilhelms-Universität zu Bonn

vorgelegt

von

Paul Gatzky,

cand. med.

aus Elberfeld.

BONN 1897.

Buch- und Steindruckerei Jos. Bach Wwe.

ACAD.
LUGD.BAT.
BIBL.

Meiner lieben Mutter.

In den letzten Jahren haben viele bedeutende Forscher, wie Landwehr, Hammarsten, Kossel u. a. eingehende Untersuchungen über die verschiedenen „Schleimstoffe“ des menschlichen Körpers angestellt. Nach den alten Ansichten war diejenige Substanz, welche den schleimigen Sekreten der sog. Schleimhäute des menschlichen Körpers seine characteristische physikalische Beschaffenheit verleiht, d. h. die Eigenschaft, sich zu Fäden auszuziehen, das Mucin, ein Körper, der aus den Elementen C, O, H und N zusammengesetzt ist. Die oben genannten Forscher haben uns jetzt darüber aufgeklärt, dass unter dem Namen „Schleimstoffe“ chemisch ganz verschiedene Substanzen verstanden wurden, die nur die eine äussere Eigenschaft gemeinsam haben, dass die Substanzen, in denen sie enthalten sind, eine fadenziehende Beschaffenheit zeigen. Der Schleimstoff bewirkt dies durch sein enormes Quellungsvermögen, ist also nicht eigentlich gelöst, sondern in einem Zustande, den man nach Nägeli als Micellarlösung bezeichnet. Da die Reindarstellung des Mucins mit ausserordentlichen Schwierigkeiten verknüpft ist, so herrschen bis in die neueste Zeit über die Eigenschaften des Mucins grosse Meinungsverschiedenheiten bei den einzelnen Autoren. Als feststehend und characteristisch für das Mucin wurde die Eigenschaft angesehen, dass es durch Essigsäure aus seiner fadenziehenden Lösung fällbar und in einem Ueber-

schuss der Säure unlöslich ist. Die Angaben über die qualitativen Reaktionen und die elementare Zusammensetzung des Mucins weichen noch ganz erheblich von einander ab, und die Ursache hierfür ist in der ungleichen Reinheit der Präparate und in dem Umstande zu suchen, dass es mehrere Mucine mit verschiedener Zusammensetzung und abweichenden Reaktionen giebt.

Die alte Darstellungsweise der Mucine ist folgende: Die mit Kalkwasser oder destilliertem Wasser extrahierte Substanz wird filtriert, mit Essigsäure im Ueberschuss gefällt und der Niederschlag wird durch lange fortgesetztes Auswaschen mit verdünnter Essigsäure und später mit destilliertem Wasser gereinigt.

Die älteren Forscher fanden im Mucin keinen Schwefel. Im Gegensatz dazu wiesen Jernström [1]) im Mucin des Nabelstrangs, Landwehr [5]) in dem der Submaxillardrüse und Giacosa in der Hülle des Froscheies bis zu 1 % Schwefel nach, sodass jetzt der Schwefelgehalt des Mucins feststeht.

Eichwald [6]) kam nun bei seinen Untersuchungen zu dem Schluss, dass das Mucin einen gepaarten Stoff darstelle, dessen einer Atomcomplex ihm mit allen genuinen Eiweisskörpern gemeinschaftlich zukomme, während der andere unter gewissen Verhältnissen als Zucker austräte. Eichwald gelang es nämlich, aus Weinbergschneckenmucin durch Kochen mit Säuren Traubenzucker darzustellen. Die Untersuchungen Eichwalds wurden durch Hammarsten [2]) und Landwehr [3]) bestätigt. Jedoch erklärte Landwehr, dass die reducierende Substanz nicht aus dem Mucin selbst stamme, sondern eine Verunreinigung sei, die bei der Essigsäurefällung mitgerissen werde. Hammarsten wies dagegen nach, dass die reducierende Substanz aus dem Mucin selbst stammt und, dass das

Mucin, welches durch geringfügige Eingriffe leicht bis zur Unkenntlichkeit verändert wird, durch die tiefgreifenden chemischen Einwirkungen der Darstellungsmethode Landwehrs bedeutende Veränderungen erlitten hatte.

Entgegen der Ansicht, welche früher allgemein herrschte, dass die schleimige Beschaffenheit der verschiedenen Schleimsekrete des Tierkörpers durch ein und dieselbe Substanz hervorgerufen würde, fand sich bei genauerer Untersuchung der einzelnen Sekrete, dass sie zwar Substanzen enthalten, die in den wichtigsten Eigenschaften übereinstimmen, sich aber durch Löslichkeits- und Fällungsverhältnisse unterscheiden. Hammarsten stellte u. a. aus Fuss-, Mantel- und Eiweissdrüse der Weinbergschnecke drei verschiedene Mucine dar. Von diesen ist wieder das Mucin der Submaxillardrüse des Rindes und das des menschlichen Nabelstrangs verschieden. Hieraus geht hervor, dess die verschiedenen Mucine zwar ähnliche, aber nicht identische Körper sind.

Durch weitere Versuche fand Hammarsten, dass das Mucin oder richtiger die verschiedenen Mucine keinen Phosphor enthalten. Er und Kossel fanden nun eine zweite Gruppe von Körpern, denen auch die Fähigkeit Schleim zu bilden zukommt, die aber phosphorhaltig sind und sich hierdurch wesentlich von den Mucinen unterscheiden. Es ist dies die Gruppe der Nucleïne.

An der Hand dieser Versuche teilte man nun die Schleimkörper in zwei Gruppen. Die erste enthielt die phosphorfreien Mucine, die zweite die phosphorhaltigen Nucleïne. Unter diesen Verhältnissen schien es nun leicht zu sein, die beiden Gruppen trotz ihrer grossen Aehnlichkeit zu unterscheiden. Es kam noch dazu, dass, während das Mucin beim Kochen mit verdünnten Mine-

ralsäuren einen Kupferoxyd reducierenden Körper gab, eine Reduktion bei den Nucleïnen nicht gefunden wurde. Walter [7]) erhielt jedoch bei weiteren Versuchen über diesen zweiten Punkt aus dem Nuclein der Hefe einen zuckerähnlichen Körper. Allerdings hatte er bei seinen Versuchen stärkere Säuren und längeres Kochen anwenden müssen, um einen positiven Ausfall der Reductionsprobe zu erhalten. Der Wegfall dieses Merkmales machte nun die Unterscheidung zwischen Mucin und Nucleïn in vielen Fällen unmöglich, da man nicht mehr mit Sicherheit bestimmen konnte, ob man eine Verunreinigung des Mucins mit Nucleïn oder sogar reines Nucleïn vor sich habe. Denn die Bestimmung des für die Nucleïne characteristischen Phosphorgehaltes ist mit grossen Schwierigkeiten verknüpft,

Im Anschluss an die vorher erwähnten Versuche Walters hat daher Salkowski [8]) versucht, die Bedingungen festzustellen, unter denen die reducierende Substanz bei Mucinen und Nucleïnen abgespalten wird. Er führte den Reductionsnachweis auf folgende Weise: Dem getrockneten Körper, der vorher fein gepulvert war, wurde 7,5 % Salzsäure zugesetzt, das ganze in einem Reagenzglase auf dem Wasserbade erhitzt und von Zeit zu Zeit Proben zur Veranstaltung der Trommerschen Reductionsprobe abgenommen. Die Probe wurde filtriert, abgekühlt, mit starker Natronlauge alkalisiert, Kupfersulfatlösung zugesetzt und erhitzt. In jedem Falle wurde die erste Probe nach 10 Min. abgenommen. Ergab sich nach dieser Zeit keine Reduction, so wurde weiter erhitzt, meistens im ganzen $^1/_2$ Stunde. Salkowski erhielt folgende Resultate: Mucin, zu dessen Darstellung er die Submaxillardrüse des Rindes benutzt hatte, zeigte eine deutliche Reduction nach wenigen Mi-

nuten. Nucleohiston, ein von Lilienfeld dargestellter Nucleïnkörper, ergab selbst nach 3 stündigem Kochen noch keine Spur von Reduction, war aber phosphorhaltig, ebenso das aus Eidotter dargestellte Nucleoalbumin.

Aus diesen Versuchen ergiebt sich als gemeinsames Resultat, dass das Mucin beim Kochen mit 7,5 % Salzsäure schon nach wenigen Minuten reducierende Substanz liefert, die Nucleoalbumine aber, einschliesslich des Nucleohistons, auch bei $^1/_2$—3 stündigem Kochen mit Salzsäure kaum reduzierende Substanz geben. Augenscheinlich erfolgt die Abspaltung von Kohlehydraten aus dem Nucleoalbinum sehr viel schwieriger, jedenfalls nicht unter Bedingungen, unter denen das Mucin mit Leichtigkeit reducierende Substanz liefert.

An diese Untersuchung reihte sich die Entdeckung weiterer neuer Schleimstoffe an, sodass das Gebiet der schleimgebenden Substanzen immer grösser und complicierter wurde. So stellte u. a. Salkowski [8]) aus der Synovia einen Schleimkörper dar, den er Synovin nannte. Er fand, dass dieser Körper nicht zu den Nucleoalbuminen gehörte, da er keinen Phosphor enthielt, dass er aber ebensowenig mit dem Mucin identificiert werden kann, weil er beim Kochen mit verdünnten Mineralsäuren keine oder nur äusserst geringe reducierende Substanz liefert.

Daraus folgt, dass es ausser den Mucinen und Nucleïnen noch eine dritte Kategorie von durch Essigsäure fällbaren, im Ueberschuss nicht löslichen, in ihren physikalischen Eigenschaften dem Mucin gleichenden Eiweisskörpern giebt, welche sich von den Nucleoalbuminen durch den Mangel an Phosphor, von den Mucinen durch ihre Widerstandsfähigkeit gegen Mineralsäuren unterscheiden. Da sich an diese Entdeckung die Auffindung mehrerer

anderer Schleimstoffe, die weder zu den Mucinen noch zu den Nucleïnen gerechnet werden konnten, anschloss, wie z. B. des von Landwehr dargestellten Gallenmucins, so versuchte Kossel [10]) durch Einteilung in bestimmte Gruppen Ordnung zu schaffen. Obwohl die Einteilung keine für alle Fälle giltige ist, so ist es doch zweckmässig, vorläufig daran festzuhalten. Kossel unterscheidet drei Gruppen: die erste Gruppe enthält die Mucine, welche phosphorfrei sind, die zweite die Nucleïne, welche phosphorhaltig sind. Diese beiden Gruppen rechnet man zu den zusammengesetzten Eiweisskörpern oder Proteïden (nach Hoppe-Seyler) d. h. zu den Stoffen, die dadurch characterisiert sind, dass sie sich einerseits in Eiweissstoffe oder deren Zersetzungsprodukte, andererseits in Kohlehydrate oder ähnliche Körper spalten.

Die Gruppe der Mucine, welche am genauesten studiert ist, wird, kurz zusammengefasst, durch folgende Eigenschaften characterisiert. Die Substanzen sind phosphorfrei und spalten beim Kochen mit verdünnten Mineralsäuren neben Eiweiss eine Kupferoxyd leicht reducierende Substanz, ein Kohlehydrat, ab. In reinem Wasser sind sie unlöslich, löslich in verdünnten alkalischen Flüssigkeiten, vorausgesetzt, dass auch der geringste Ueberschuss an Alkali vermieden wird; fällbar sind sie durch Essigsäure und durch Alkohol, doch bleibt bei Gegenwart von neutralen Salzen, namentlich Kochsalz, die Fällung durch Essigsäure aus. In einem Ueberschuss dieser Säure sind sie unlöslich. Die bekannte Eiweissreaktion mit Essigsäure und Ferrocyankalium geben sie nicht. Was die physikalischen Eigenschaften der Mucine anlangt, so sind ihre alkalischen Lösungen filtrierbar und zeigen eine typische fadenziehende Beschaffenheit. Die bis jetzt genauer studierten Mucine,

wie das Mucin der Submaxillardrüse des Rindes, das Mucin des Nabelstrangs und die Mucine der Weinbergschnecke unterscheiden sich nur durch Löslichkeits- und Fällungsverhältnisse, ohne in ihren sonstigen Eigenschaften wesentlich von einander abzuweichen.

Die zweite Gruppe, die Nucleïne, hat Kossel in der neueren Zeit genauer studiert. Nach seinen Untersuchungen sind die Nucleïne Verbindungen von Eiweiss mit einer phosphorhaltigen organischen Substanz, welche er Nucleïnsäure nennt und, der ebenfalls die Fähigkeit der Schleimbildung zukommt. Bei weiterer Zersetzung durch verdünnte Mineralsäuren in der Hitze bildet sich Xanthin und Hypoxanthin. Ein Characteristicum für sie ist ihr Phosphorgehalt. Sie spalten wie die Mucine einen reducierenden Körper ab, welcher bei weiterer Zersetzung aus der Nucleïnsäure entsteht. Die reducierende Substanz wird als ein Kohlehydrat angesehen, wenn auch ihre Reindarstellung bisher noch nicht gelungen ist. Man unterscheidet schwefelhaltige und schwefelfreie Nucleïne. Die ersteren geben bei anhaltendem Kochen mit Barytwasser oder verdünnten Säuren Tyrosin.

Die Nucleïne bilden einen wesentlichen Bestandteil der Zellkerne. Durch Einwirkung gewisser Substanzen, z. B. Kochsalzlösung auf Lachssyerma, kann man die Nucleïne ausziehen, und man erhält eine zähe schleimige Masse, die bedeutend zäher und nur sehr schwer oder gar nicht filtrierbar ist. Auf diese Thatsache führt Kossel auch die Bildung des schleimigen Eiters beim Blasenkatarrh zurück, indem der Kochsalzgehalt des Harnes und das durch Zersetzung des Harnstoffes gebildete kohlensaure Ammoniak die Nucleïnsubstanzen aus den Kernen der Eiterzellen auszöge.

Die dritte Gruppe der Kosselschen Einteilung enthält nun alle die Stoffe, welche man weder zu den Mucinen, noch zu den Nucleïnen rechnen kann, aber doch zu den Schleimstoffen gehören. Die zu dieser Gruppe gerechneten Substanzen sind daher Stoffe von der verschiedensten Zusammensetzung und den verschiedensten chemischen Eigenschaften. Zu dieser Gruppe gehören u. a. das von Landwehr dargestellte Gallenmucin, der Schleimstoff der Galle, und das Synovin, welches Salkowski aus der Synovia darstellte.

In der früheren Zeit rechnete man nun sämtliche Schleimstoffe, welche der Respirations- und Intestinaltractus lieferte, einfach zu der Mucingruppe, obwohl genaue chemische Untersuchungen über die einzelnen Sekrete noch gar nicht vorhanden waren. Erklärlich ist diese Thatsache, wenn man die Schwierigkeiten bedenkt, welche sich diesen Untersuchungen in den Weg stellten. Vor allem war es der Mangel an Material, sodann die Schwierigkeit der Reingewinnung, da wir im Verdauungskanal überall auf mehr oder weniger veränderte Nahrungsstoffe stossen, die sich mit dem Sekrete der Schleimhaut aufs innigste vermischen. Hierzu kommt noch die äusserst leichte Veränderlichkeit der Schleimstoffe durch geringe chemische Eingriffe, schon durch geringe Erhöhung der Temperatur erleiden sie die tiefgreifendsten Veränderungen. So zeigte Hammarsten, dass selbst ganz verdünnte Alkalien eine Veränderung des Submaxillarmucins herbeiführen, ferner dass nur bei ganz niedriger Temperatur die Mucine längere Zeit sich unverändert erhalten, sodass er alle seine Versuche bei Winterkälte anstellen musste.

Ueber die chemische Natur des Schleimstoffes aus dem Respirationstractus hat Prof. Müller in Marburg

in den letzten Jahren eingehende Untersuchungen angestellt. Er wies in den verschiedenen Sputis eine grössere oder geringere Menge reducierender Substanz nach. Sein Schüler Kossel wies nun im pneumonischen Sputum einen vermehrten Gehalt an Phosphorsäure nach, den er auf den hohen Nucleïngehalt desselben zurückführte. Das bronchitische Sputum zeigte sich im Gegensatz dazu viel weniger phosphorhaltig. Herr Dr. Schmidt fand dann in Uebereinstimmung mit den Resultaten Kossels, dass das bronchitische Sputum bei der Färbung mit Triacidlösung die für Mucin characteristische grüne Farbe zeigte, während das pneumonische Sputum einen roten Farbenton annimmt. Ueber die Natur dieser beiden Körper war nun bis in die neueste Zeit nicht viel mehr bekannt, als dass sie die Reductionsprobe liefern. In diesem Jahre hat nun Prof. Müller [1]) genauere Untersuchungen über das bronchitische Sputum mitgeteilt und eine Methode zur Reindarstellung des Schleimstoffs angegeben. Wenn man auch nicht annehmen kann, dass die von Prof. Müller angegebene Methode bei den ausserordentlichen Schwierigkeiten, die mit den Untersuchungen über diese Art von Stoffen verbunden sind, absolut einwandsfrei ist, so bezeichnen seine Resultate doch einen bedeutenden Fortschritt in der Schleimfrage. Es möge deshalb das Verfahren Müllers hier etwas genauer mitgeteilt werden. Das glasige, rein schleimige Sputum der chronischen Huster, das den geringsten Gehalt an Eiweiss und schleimigen Nucleïnsubstanzen darbot, wurde mit Ausschluss aller eitrigen Partieen gesammelt. Mit grosser Sorgfalt wurden alle Speiseteile entfernt. Da die schleimige Beschaffenheit dem Eindringen der Reagenzien ein grosses Hindernis entgegensetzt, so musste zuerst die schleimige Beschaffenheit gebrochen werden;

dies geschah mit Spiritus, mit dem das Sputum tüchtig geschüttelt wurde. Der Schleim contrahiert sich dabei zu feinen Fäserchen, während die zelligen Elemente und das Eiweiss grossenteils als fein krümelige Trübung erscheinen. Die letzteren Bestandteile wurden durch Colieren entfernt. Durch Schütteln mit verdünnter Salzsäure, welche das Mucin ungelöst lässt, wurde ein Teil des Eiweisses und der anderen Substanzen gelöst. Hierauf wurde mit verdünnter Lösung von kohlensaurem Natron ebenso behandelt, um die Nucleïnsubstanzen und einen Teil des Eiweisses zu lösen, während das Mucin nur in sehr geringer Menge in Lösung ging. Die Behandlung mit HCl und Na_2Co_3 wurde abwechselnd wiederholt. Das so gereinigte Präparat wurde in möglichst dünner Natronlauge gelöst, centrifugiert und durch häufig gewechselte Faltenfilter filtriert. Die fadenziehende Flüssigkeit wurde mit Essigsäure angesäuert. Es erfolgte eine in feinen Fädchen erscheinende Fällung. Diese wurde dann mit Alkohol und Aether behandelt. Das so dargestellte Mucin erwies sich als vollständig phosphorfrei, also frei von Nucleïnen. Ferner erhielt Müller beim Kochen mit verdünnten Mineralsäuren sehr grosse Mengen reducierender Substanz. Müller stellte auch die reducierende Substanz selbst dar und nennt sie, da sie mit keinem bisher bekannten Stoff identisch zu sein scheint, Mucose.

Die genauesten Untersuchungen über die Schleimsubstanzen des Verdauungstractus hat Hammarsten [12]) gemacht. Er benutzte zu seinen Versuchen den Schleimstoff der Submaxillardrüse vom Rind. Hammarsten verliess die alte Methode der Essigsäurefällung, bei welcher er niemals einen ganz reinen, sondern durch andere mitausgefällte Schleimsubstanzen verunreinigten Körper er-

erhielt, und benutzte ein neues Verfahren zur Reindarstellung des Mucins, welches frei von den oben erwähnten Nachteilen ist. Zu dieser Methode, welche bei den unten angeführten Untersuchungen ebenfalls versucht wurde, gelangte er folgendermassen. Im Anschluss daran seien auch die Mängel erwähnt, welche die Essigsäuremethode besitzt und die Hammarsten zu dem Forschen nach einem neuen Verfahren veranlassten.

Er extrahierte die von Bindegeweben und Blutgefässen möglichst gereinigte Schilddrüse mit destilliertem Wasser, filtrierte durch ein möglichst dickes Filter, damit keine Formelemente mit durchgehen, dann setzte er Essigsäure im Ueberschuss zu. Das Mucin windet sich sofort in einem zähen Klumpen um den Glasstab; bei langsamem Zusatz von Essigsäure entsteht ein feinflockiger Niederschlag, der sich allmählich zu Boden setzt. Durch weiteres Durchkneten mit verdünnter Essigsäure konnte Hammarsten das Mucin nicht vollständig vom Nucleoalbumin befreien, ebenso nicht durch Auswaschen mit essigsaurem Wasser auf dem Filter. Darauf versuchte Hammarsten, das Mucin zu reinigen durch wiederholtes Auflösen in alkalihaltigem Wasser und Ausfällen mit Essigsäure, da das Mucin bei Vermeidung auch des geringsten Ueberschusses an Alkalien seine typische Beschaffenheit nicht verliert. Bei diesen Methoden fand nun Hammarsten, dass er das Mucin nicht ganz von einer durch Ferrocyankalium fällbaren Substanz reinigen konnte. Er versuchte deshalb die Salzsäuremethode, welche auf folgender Eigenschaft des Mucins beruht: Mucin ist in 0,1—0,2 % H-Cl-Lösung sehr leicht löslich; verdünnt man diese Lösung um das 4—5 fache Volumen mit destilliertem Wasser, so scheidet sich das Mucin mit unveränderten Eigenschaften wieder

aus, während das Nucleoalbumin fortwährend gelöst bleibt. Hammarsten extrahierte also die Schilddrüse mit destilliertem Wasser, das Extract wird ganz klar filtriert und zu je 100 ccm des Filtrates werden 2 ccm einer 7,5 % Salzsäurelösung zugesetzt, sodass das Filtrat 0,15 % Salzsäure enthält. Zuerst zeigt sich eine deutliche Fällung, die kurz darauf verschwindet. Es wird filtriert und sofort das 4—5 fache Volumen destillierten Wassers zugesetzt. Das Mucin scheidet sich sofort aus und windet sich in einem zähen Klumpen um den Glasstab. Zur weiteren Reinigung wird dann das Mucin mit destilliertem Wasser gut ausgewaschen, in einer Spur Alkali wieder aufgelöst und auf die oben angegebene Methode mit Salzsäure zum zweiten Male gefällt. Nachdem das Extract bis zur vollkommenen neutralen Reaktion mit destilliertem Wasser ausgewaschen ist, wird es mit Alkohol und Aether behandelt. Alle Versuche wurden bei Winterkälte angestellt. Nach dieser Behandlung des Mucins liess sich mit Essigsäure und Ferrocyankalium keine Spur von Nucleoalbumin nachweisen. Hammarsten fand zwar etwas Phosphor in dem Präparate, jedoch eine so geringe Spur, dass er annimmt, dass der Phosphorgehalt von der Asche allein herrührt.

Ueber den Darmschleim des Menschen sind bis jetzt nur äusserst wenige Untersuchungen veröffentlicht, da das Material für solche Versuche äusserst spärlich ist. In dem Schleim bei Enteritis mucosa membranacea ist zwar ein Schleimstoff vorhanden, aber eine Reindarstellung ist noch nicht gelungen. Herrn Dr. Schmidt ist es gelungen, aus dem ausgeheberten Magenschleim des Menschen einen Körper zu isolieren, der nach 10 Min. deutliche Reduction zeigte. Durch Herrn Dr. Schmidt veranlasst hat dann Kremer [13]) Untersuchungen über den Magenschleim

bei Schweinen angestellt, bei denen er sich der von Hammarsten angegebenen Methoden bediente. Er gelangte zu dem Resultate, dass der Magenschleimstoff des Schweines in seinen wesentlichen chemischen Eigenschaften den Mucinen entspricht, dass es aber niemals eine fadenziehende Lösung giebt und weiterhin nicht mit der Salzsäuremethode Hammarstens darstellbar ist. Im Anschluss an diese Versuche wurde nun der Versuch gemacht, den Darmschleimstoff des Schweines zu isolieren und rein darzustellen. Reichliches Material für diese Untersuchungen stand uns im hiesigen Schlachthause zur Verfügung. Wir stiessen jedoch auf ganz unerwartete Schwierigkeiten, die weiter unten ausführlicher mitgeteilt werden, und es zeigte sich, dass eine Reindarstellung dieses Körpers weder mittelst der Essigsäuremethode noch mittelst des Hammarstenschen Salzsäureverfahrens möglich ist, da wir bei der Salzsäuremethode überhaupt keine Fällung, bei der Essigsäurefällung dagegen eine sehr phosphorhaltige Substanz erhielten.

Zu den nun folgenden Versuchen wurde Schleim benutzt, der aus den Därmen von ganz frisch geschlachteten Schweinen, die unter unseren Augen getötet wurden, stammte, und zwar ist es besonders Schleim aus den Dickdärmen, da die Ausbeute an Dünndarmschleim eine ausserordentlich geringe ist. Nachdem der Darm umgedreht, von Kot sorgfältig gereinigt und in kaltem Wasser sorgfältig ausgespült war, wurde mit einem stumpfen Löffel vorsichtig und ohne stärkeren Druck auszuüben der Schleim von der Darmschleimhaut abgeschabt und in einem Glasgefäss gesammelt, welches von Eisstückchen umgeben war, um einer stärkeren Erwärmung des Schlei-

mes so gut, wie eben möglich, vorzubeugen. Es zeigte sich, dass die Schleimmenge, welche die einzelnen Därme lieferten, eine sehr geringe war, sodass eine verhältnismässig grosse Anzahl nötig war, um eine einigermassen verwertbare Menge der Substanz zu erhalten. Auch hier zeigte sich, dass die Schleimmenge ebenso, wie beim Magen, eine ausserordentlich verschiedene bei den einzelnen Tieren war. Während die Tiere, welche bis zum Schluss reichlich gefüttert waren, eine verhältnismässig grosse Menge Schleim lieferten, war von Schweinen, die gehungert hatten, kaum eine sichtbare Spur der Substanz zu erhalten.

Mikroskopisch bemerkte man im Dickdarmschleim eine grosse Anzahl verschollter Epithelien, einige Becherzellen und eine Anzahl kleiner Fetttröpfchen eingebettet in eine strukturlose Grundsubstanz. Im Dünndarmschleim waren die Epithelien in fast noch reichlicherer Menge vorhanden.

Nachdem wir auf die oben beschriebene Weise möglichst reinen Darmschleim von ca. 20 Schweinedärmen gesammelt hatten, wurden einige Vorversuche mit dem erhaltenen Schleim angestellt. Zunächst handelte es sich darum, festzustellen, welche Methode der Darstellung am besten zu verwerten war. Dem gesammelten Schleim, der neutrale Reaktion zeigte, wurde je zur Hälfte 0,1 % Natronlauge und destilliertes Wasser zugesetzt, beide Extracte mit einem Glasstabe häufig umgerührt und dann 24 Stunden im Eiskeller aufbewahrt, da es sich bei den Untersuchungen über Magenschleim schon ergeben hatte, dass alle Versuche wegen der leichten Veränderlichkeit des Schleimstoffs in der Wärme bei möglichst niedriger Temperatur gemacht werden müssen.

Da die Hammarsten-Methode der Fällung mit Salzsäure die anerkannt beste ist, so gingen wir zunächst zu dieser Methode über. Das durch Zusatz von destilliertem Wasser gewonnene Extract wurde durch Faltenfilter so oft filtriert, bis die Flüssigkeit völlig klar war. Darauf wurden analog den Versuchen von Hammarsten 2 ccm 7,5 % Salzsäure auf 100 ccm des Filtrates zugesetzt und dann das 4—5 fache Volumen destilliertes Wasser zugegossen. Es zeigte sich jedoch nur eine mässige Trübung, die nur einen ganz spärlichen Bodensatz lieferte, welcher bei der zweiten Fällung nicht wieder auftrat. Nun wurde das andere Präparat, welches mit Natronlauge hergestellt war, auf dieselbe Weise behandelt. Das Resultat war völlig negativ.

Wir sahen uns daher genötigt, die Salzsäuremethode zu verlassen und auf die alte Methode der Ausfällung mit Essigsäure zurückzugreifen.

Frisch gesammeltem Schleim wurde 0,1 % Natronlauge zugesetzt, welche Concentration sich bei früheren Versuchen als die geeignetste erwiesen hatte, dann liessen wir unter häufigem Umrühren 24 Stunden extrahieren. Der Extract wurde klar filtriert und dann mit Essigsäure im Ueberschuss behandelt, worauf sich ein feinflockiger voluminöser weisser Bodensatz abschied; der Bodensatz wurde dann mit destilliertem Wasser mehrere Tage lang ausgewaschen, bis seine Reaktion fast neutral war.

Im Anschluss an dieses Präparat, welches mit A bezeichnet werden möge, stellten wir uns nun auf dieselbe Weise durch Ausziehen mit verdünntem Kalkwasser aus normalen Faeces vom Menschen ein zweites Präparat dar, Präparat B. Es wurde nämlich von Hoppe-Seyler angegeben, dass man auf diese Weise das Mucin aus den Faeces isolieren könnte.

Von beiden Präparaten wurde darauf eine Probe mit 7,5 % Salzsäure auf dem Wasserbade erhitzt, dann abgekühlt und auf Reduction geprüft. Nach 10 Minuten langem Erhitzen war bei keinem der Präparate Reduction nachweissbar. Jetzt wurde $^1/_2$ Stunde erhitzt und nun zeigte sich, allerdings erst nach 4 stündigem Stehen, am Boden ein deutlicher, wenn auch geringer Niederschlag von rotem Kupferoxydul.

Der erhaltene Bodensatz wurde nun mit destilliertem Wasser weiter gereinigt, bis seine Reaktion völlig neutral war, dann in einem Minimum Natronlauge aufgelösst und zum zweiten Male gefällt. Darauf wurde der Bodensatz wiederum mit destilliertem Wasser ausgewaschen, bis seine Reaktion völlig neutral war. Die Präparate wurden dann unter absolutem Alkohol aufbewahrt.

Hierauf wurde mit beiden Präparaten die Phosphorprobe gemacht. Der Bodensatz wurde eingedampft und getrocknet und mit Soda und Salpeter zu gleichen Teilen im Platintiegel geschmolzen. Nachdem die ganze Substanz verbrannt und die ganze Masse eine weisse Farbe angenommen hatte, wurde sie in destilliertem Wasser gelöst, filtriert und mit molybdänsaurem Ammon auf Phosphor geprüft. Die bei diesen Versuchen benutzten Substanzen waren vorher auf Phosphor geprüft und völlig rein befunden worden. Bei Präparat A wie B trat sofort eine deutliche Gelbfärbung ein. Man musste also annehmen, dass beide Präparate eine Beimengung von Kernsubstanzen enthielten.

Nach diesen negativen Resultaten wurde nun die Essigsäurefällung noch einmal in etwas veränderter Form versucht. Es war uns nämlich schon bei den ersten Versuchen aufgefallen, dass der Bodensatz bei der zweiten Fällung ein bedeutend geringerer war als bei der ersten,

ein Umstand, den wir darauf zurückführten, dass bei der zweiten Fällung wenigstens ein Teil der bei der ersten Fällung mitgerissenen Nucleïnsubstanzen in Lösung blieb. Um ferner sicher zu sein, dass die Natronlauge nicht der Grund des negativen Resultates sei, wurden dieses Mal 6 Präparate hergestellt: Je ein Teil des Schleims und der Faeces wurde mit destilliertem Wasser, mit 0,1% Natronlauge und mit verdünntem Kalkwasser ausgezogen. Alle 6 Präparate wurden darauf mit Essigsäure gefällt, durch Auswaschen mit destilliertem Wasser neutralisiert, mit einer Spur von Alkali wieder aufgelöst und wiederum gefällt. In dieser Weise wurden die Präparate 4 mal behandelt, wobei es sich zeigte, dass die Menge des Bodensatzes jedesmal so erheblich abnahm, dass ein längeres Reinigen und Auswaschen unmöglich war, wenn überhaupt verwertbare Reste der Substanz übrig bleiben sollten.

Diese so dargestellten Präparate wurden nun wiederum auf Reduction und Phosphor geprüft. Nach 15 Min. langem Kochen mit Mineralsäuren zeigten nach einstündigem Stehen alle 6 Präparate sehr schwache, jedoch deutliche Reduction. Die Phosphorprobe fiel ebenfalls bei allen 6 Präparaten wieder deutlich positiv aus.

Man muss also annehmen, dass es nicht möglich ist, selbst bei dem sorgfältigsten Reinigen, wie es bei den letzten Versuchen geschehen ist, mit der Fällungsmethode durch Essigsäure den Schleimstoff von den ihm anhaftenden Nucleïnsubstanzen vollständig zu befreien. Eine andere Möglichkeit ist die, dass die Schleimstoffmenge eine überaus geringe ist und unsere Versuche an der zu geringen Menge des Materials gescheitert sind.

Was das aus den Faeces dargestellte Extract anbetrifft, so ist wohl damit bewiesen, dass eine Darstellung des Schleimstoffes auf die oben angeführte Weise unmöglich ist, dass man vielmehr eine durch Nucleïn, wenn nicht auch durch noch andere Stoffe stark verunreinigte Substanz erhält.

Bei der mikroskopischen Untersuchung war es uns schon aufgefallen, dass sowohl in dem Dickdarmschleim, als auch in dem Dünndarmschleim eine nicht unerhebliche Menge Fett enthalten war, und zwar in Form kleiner Fetttröpfchen. Wir hielten es deshalb für nicht uninteressant, den Fettgehalt des Darmschleims näher zu bestimmen. Es zeigte sich bei diesen Untersuchungen ein bemerkenswerter Unterschied in dem Gehalt des Dickdarm- und Dünndarmschleims einerseits an Neutralfetten und freien Fettsäuren, andererseits an Seifen. Zur Bestimmung des Fettgehaltes und zur Trennung der einzelnen Fettkörper wurden die Eigenschaften der Neutralfette und freien Fettsäuren benutzt, in Wasser unlöslich, in Aether leicht löslich zu sein und sich mit Wasserdämpfen nicht zu verflüchtigen, während die Seifen in Aether unlöslich sind. Aus den Seifen werden die Fettsäuren durch starkes Ansäuren und Erhitzen frei gemacht.

Zu unseren Versuchen wurde die von Fr. Müller angegebene Methode benutzt. Der zu untersuchende Schleim wurde auf dem Wasserbade bis zur Trockene eingedampft, möglichst fein gepulvert und gewogen. Darauf wurde das entstandene Pulver 3 Tage lang in dem Soxhletschen Extractionsapparat mit Aether ausgezogen. Das Aetherextract wurde zur Trockene eingedampft und 12 Stunden unter den Exsiccator gestellt, bis man annehmen konnte, dass alle Feuchtigkeit entfernt

war, dann gewogen. Dieses Extract wurde entsprechend den oben angeführten Eigenschaften der Fette als aus Neutralfetten und freien Fettsäuren bestehend angesehen. Zwar sind auch Lecithin und Cholestearin in Aether leicht löslich und gehen in das Extract über, doch ist ihre Menge als so gering anzusehen, dass sie bei unseren Versuchen wohl vollständig ausser acht gelassen werden dürfen.

Die ursprüngliche Substanz wurde darauf mit 1—2 % Salzsäurealkohol 10 Minuten im Sieden erhalten, wiederum auf dem Wasserbade getrocknet und dann gepulvert. Bei dieser Behandlung der Substanz wurde mit der grössten Sorgfalt darauf geachtet, dass nichts von der Substanz verloren ging. Das Pulver wurde dann abermals im Soxhletschen Extractionsapparat ausgezogen. Dieses letztere Extract wurde dann als aus den Seifen stammend angesehen.

Vom Dickdarmschleim und Dünndarmschleim wurden in dieser Weise je drei Proben untersucht, Das Gewicht der jedesmal zur Verfügung stehenden Substanz war wegen der Spärlichkeit des Materials ein äusserst geringes.

Die nachstehende Tabelle giebt die Resultate der Untersuchungen an:

I. Tabelle: Dickdarmschleim.

Probe	Gewicht der Substanz	Gewicht des I. Extracts	Gewicht des II. Extructs	Gesamtfettgehalt in Procenten
I.	1,750 gr.	0,2555 gr. od. 14,57 %	0,0749 gr. od. 4,28 %	18,85 %
II.	1,2278 gr.	0,1801 gr. od. 14,6 %	0,0642 gr. od. 5,2 %	19,8 %
III.	0,7155 gr.	0,1045 gr. od. 14,6 %	0,012 gr. od. 1,7 %	16,3 %

II. Tabelle: Dünndarmschleim.

Probe	Gewicht der Substanz	Gewicht des I. Extracts	Gewicht des II. Extracts	Gesamtfettgehalt in Procenten
I.	6,7974 gr.	0,5203 gr. od. 9,8 %	0,3614 gr. od. 5,3 %	15,1 %
II.	4,5222 gr.	0,4938 gr. od. 9,5 %	0,2460 gr. od. 4,9 %	14,4 %
III.	2,8220 gr.	0,2495 gr. od. 8,84 %	0,103 gr. od. 3,65 %	13,49 %

Aus den oben angeführten Tabellen geht hervor, dass der Fettgehalt des Darmschleimes ein ziemlich constanter ist, da die Differenz zwischen den einzelnen Resultaten nicht einmal 1 % beträgt, wenn man dabei in Betracht zieht, dass unsere Versuche nicht mit absolut reinen Substanzen gemacht worden sind. Interessant ist ferner, dass im Dünndarmschleim der Gesamtfettgehalt fast 5 % geringer ist, wie im Dickdarmschleim. Dann haben die Versuche noch gezeigt, dass die Menge der im Dickdarmschleim enthaltenen Seifen sich zu den im Dünndarmschleim enthaltenen ungefähr wie 3 : 4 verhält, während das Verhältnis der freien Fettsäuren und Neutralfette 2 : 3 ist. Endlich beträgt der Gehalt an Seifen im Dickdarm nur ca. 20 % des gesamten Fettgehaltes, während er im Dünndarm ca. 35 % beträgt.

Zum Schluss erfülle ich die angenehme Pflicht, Herrn Prof. Dr. Schultze für die gütige Durchsicht dieser Arbeit und besonders Herrn Privatdocenten Dr. Adolf Schmidt für die Ueberweisung der Arbeit und die freundliche Beihülfe, durch welche er mich bei der Anfertigung derselben unterstützte, meinen aufrichtigsten Dank auszusprechen.

Literatur.

1. Jernström, Upsala, Läkareförenings Förhandlingar Bd. XV.
2. Hammarsten, Pflügers Archiv XXXVI. p. 173.
3. Landwehr, Zeitschrift f. physiol. Chemie V, p. 371; VIII, p. 114.
4. Hammarsten, Pflügers Archiv XXXIX, p. 193.
5. Landwehr, Zeitschrift f. physiol. Chemie, V, p. 371, VI, p. 74; VIII, p. 114.
6. Eichwald, Annal. f. Chemie u. Pharm. Bd. 134.
7. Walter, Zeitschrift f. physiolog. Chemie XV, p. 477.
8. Salkowski, Virchows Archiv Bd. 131, p. 304.
9. Ad. Schmidt, Berl. klin. Wochenschrift 1893, Nr. 10.
10. Kossel, deutsche med. Wochenschrift 1891, p. 1297.
11. Prof. Müller, Sitzungsbericht der Ges. f. Naturwissenschaften zu Marburg 1896, Nr. 6.
12. Hammarsten, Zeitschrift f. physiol. Chemie XII, p. 163.
13. Kremer, Inaugural.-Diss, aus d. med. Klinik zu Bonn 1895.

Lebenslauf.

Am 9. Juni 1873 wurde ich Paul Gatzky, als Sohn des Kaufmanns Karl August Gatzky und seiner Gattin Maria geb. Freund, zu Elberfeld geboren. Ich besuchte das Gymnasium zu Elberfeld, wo ich Ostern 1893 das Zeugnis der Reife erhielt. Sodann widmete ich mich dem Studium der Medizin zuerst in Bonn bis Herbst 1895, wo ich am 19. Februar 1895 das Tentamen physicum bestand, dann bis Ostern 1896 in Berlin, von da ab wieder in Bonn. Das Examen rigorosum bestand ich am 18. Dezember 1896.

Meine academischen Lehrer waren die Herren Professoren und Dozenten:

In Bonn: Binz, Bohland, Doutrelepont, Eigenbrodt, Finkler, Fritsch, Hertz †, Jores, Kékulé, Koester, Ludwig, v. Mosengeil, Pflüger, Saemisch, Schede, Schultze I, Schultze II, Strasburger, Trendelenburg, Ungar, v. la Valette St. George.

In Berlin: Gerhardt, Klemperer, L. Lewin, Olshausen, Senator, Winter.

Allen diesen hochverehrten Herren meinen aufrichtigsten Dank.